

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**“PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL
CENTRO POBLADO LA CRUCETA, DISTRITO DE
TAMBOGRANDE, PROVINCIA DE PIURA”**

PRESENTADA POR:
Bach. PEDRO MIGUEL ALBERTO ATTO VALDIVIEZO

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

PIURA – PERÚ
2014

7/14
ATT



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**“PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL
CENTRO POBLADO LA CRUCETA, DISTRITO DE
TAMBOGRANDE, PROVINCIA DE PIURA”**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR
EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Pedro Miguel Alberto Atto Valdiviezo".

Bach. PEDRO MIGUEL ALBERTO ATTO VALDIVIEZO
TESISTA

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Habacuc Celis Anticona".

Med. Vet. HABACUC CELIS ANTICONA Mg. Sc.
ASESOR

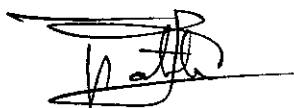
UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**“PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL
CENTRO POBLADO LA CRUCETA, DISTRITO DE
TAMBOGRANDE, PROVINCIA DE PIURA”**

TESIS REVISADA Y APROBADA POR EL JURADO



Med. Vet. ROSARIO ELERA OJEDA, Dra.
PRESIDENTA



Med. Vet. JOAQUIN TANTALEAN ODAR, Mg.
VOCAL



Med. Vet. JUAN SANCHEZ ACOSTA, Ms.
SECRETARIO



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
SECRETARIA ACADÉMICA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

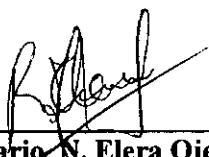
Los Miembros del Jurado que suscriben, se reunieron en acto académico para la sustentación de la tesis presentada por el Bachiller **PEDRO MIGUEL ALBERTO ATTO VALDIVIEZO**, denominada: **"PREVALENCIA DE DIRIFILARIASIS CANINA EN EL CENTRO POBLADO LA CRUCETA, DISTRITO DE TAMBOGRANDE, PROVINCIA DE PIURA"**, para cumplir con el requisito académico para la obtención del Título Profesional de Médico Veterinario.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo de investigación, así como los conocimientos demostrados por el sustentante, lo declaramos:

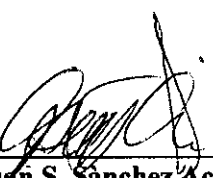
APROBADO

En consecuencia, queda en condición de ser considerado apto por el Consejo Universitario y recibir el título profesional de **Médico Veterinario**, de conformidad con lo estipulado en el Art. 175° del Estatuto General de la Universidad Nacional de Piura.

Castilla (Piura), 20 de junio del 2014


Med. Vet. Rosario N. Elera Ojeda . Dra.
Presidente


Med. Vet. Joaquín M. Tantaleán Odar. Mg.
Vocal


Med. Vet. Juan S. Sánchez Acosta. Ms.
Secretario

DEDICATORIA

A mis hijas:

Luciana Camilla y Arianna Bellén

Quienes el día que llegaron a mi vida, llegaron a cambiarla completamente, y hoy son el principal motivo de ella, las amo mucho.

A mi esposa

Martha Yessenia

Quien a pesar de los problemas y dificultades, se ha mantenido a mi lado demostrando tenerme mucha paciencia.

A mis padres

José Alberto y Lily María

Quienes con su ejemplo, sus consejos y apoyo incondicional, han sabido guiar mi camino, apoyándome día a día, y es por ellos que hoy, es posible este día.

A mis hermanos

María Liliana, Jorge Walther y José Alberto

Por el cariño, respeto y apoyo hacia mi persona, a pesar de las diferencias.

A mis mamitas

Adelina y Magdalena

Por su cariño incondicional, su apoyo y paciencia para conmigo.

A mis amigos

Carlos Guevara, Alain León, Ronald Girón y Felipe Ramos

Con quien compartí grandes vivencias durante nuestra etapa universitaria y que estoy seguro nuestra amistad será para toda la vida, Hasta pronto colegas!

AGRADECIMIENTO

A Dios y mi Señor Cautivo de Ayabaca

Porque nunca me han dejado solo, nunca me abandonaron cuando los necesite, siempre han guiado mi camino, han sido el hombro de apoyo para levantarme en los momentos difíciles.

A mis padres

José Alberto y Lily María

Por su apoyo en la realización de este trabajo de investigación y poder conseguir el título de Médico Veterinario

A mi asesor

M.V. Habacuc Celis Anticona

En quien siempre encontré consejos y apoyo incondicional para la realización de mi trabajo de tesis.

A todos mis profesores

Por su apoyo y orientación en la carrera universitaria, gracias por sus consejos, enseñanzas y vivencias.

A mis tíos

Robert, Eduardo, Leoncio, Edit y Lilia

Por su apoyo en la toma de muestras, sin las cuales no hubiese podido realizar esta investigación.

A mis primos

Jhan, Cecilia y Alexandra

Por su ayuda en el manejo de los perros

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera apoyaron la realización y logro de este objetivo, ¡Gracias!

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. ANTECEDENTES	2
2.2. TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA	4
2.3. CICLO BIOLÓGICO	6
2.4. DIROFILARIASIS	8
2.4.1. Reservorios	9
2.4.2. Factores que determinan la receptividad del perro	10
2.4.3. Vectores	11
2.4.4. Factores ambientales	11
2.5. PATOGÉNESIS	12
2.5.1. Hipertensión pulmonar	12
2.5.2. Fallo congestivo derecho del corazón	14
2.5.3. Síndrome de la vena cava o del fallo hepático	14
2.5.4. Neumonitis alérgica	15
2.5.5. Tromboembolización	16
2.5.6. Alteraciones hepáticas y renales	17
2.6. SIGNOS CLÍNICOS	18
2.7. DIAGNÓSTICO	19
2.7.1. Clínico	20
2.7.2. Etiológico	20
2.7.2.1. Frote de gota gruesa	20
2.7.2.2. Técnica de Knott	21
2.7.2.3. Prueba de filtro	22
2.7.2.4. Método del micro capilar (test de woo)	23
2.7.3. Inmunodiagnóstico	23
2.7.4. Radiografías	24
2.7.5. Ecocardiogramas	24

2.8. PREVENCIÓN	24
2.9. TRATAMIENTO	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1. LUGAR EXPERIMENTAL	26
3.2. ANIMALES DE ESTUDIO	26
3.3. PERIODO DE LA INVESTIGACIÓN	26
3.4. MATERIALES Y EQUIPOS	27
3.4.1. De campo	27
3.4.2. De laboratorio	27
3.4.3. De redacción	28
3.5. METODOLOGÍA	28
3.5.1. Universo o población	28
3.5.2. Muestra	28
3.5.3. Cálculo de muestra	28
3.5.4. Procedimiento de toma de muestra	29
3.5.5. Procedimiento de análisis de laboratorio	30
3.5.6. Determinación de la prevalencia	30
3.5.7. Intervalo de confianza	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	32
4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS CANINOS MUESTREADOS	32
4.2. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA	32
4.3. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS POR SEXO	34
4.4. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS POR EDAD	35
5. CONCLUSIONES	38
6. RECOMENDACIONES	39
7. RESUMEN	40
8. BIBLIOGRAFÍA	42
9. ANEXOS	44

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. DESCRIPCIÓN DE LOS ANIMALES MUESTREADOS	32
2. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL C.P. LA CRUCETA	34
3. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL C.P. LA CRUCETA POR SEXO	35
4. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA EN EL C.P. LA CRUCETA POR EDAD	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO	PÁGINA
1. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA	33
2. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA POR SEXO	34
3. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA POR EDAD	36

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. COMPARACIÓN DE DIROFILARIAS INMITIS MACHO Y HEMBRA	5
2. MICROFILARIAS DE DIROFILARIA INMITIS	5
3. CICLO BIOLÓGICO DE DIROFILARIA INMITIS	7
4. DIROFILARIA INMITIS EN EL VENTRÍCULO DERECHO Y ARTERIA PULMONAR DE UN CANINO	9
5. VECTORES DE DIROFILARIA INMITIS	11
6. HEMORRAGIA PULMONAR	18

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1. BASE DE DATOS	44
2. DIFERENCIA D. INMITIS VS D. RECONDITUM	47
3. FOTOS	48

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La infección causado por el nemátodo *Dirofilaria immitis* tiene varias denominaciones y es un problema de gran importancia debido a la patogenicidad del nemátodo. Es una enfermedad parasitaria que afecta a los caninos. Este parásito necesita de hospederos intermediarios tales como los mosquitos de los géneros: *Culex*, *Anopheles* y *Aedes* para infestar nuevos hospederos. Es de curso generalmente crónico y subclínico, lo que influye que haya pacientes que no reciban tratamiento oportuno, o que lo reciban sólo cuando presentan signos clínicos que hacen sospechar de dirofilariasis.

La dirofilariasis ha sido reportada a nivel mundial, sobre todo en zonas tropicales y subtropicales o con humedad constante, debido a que los climas cálidos y húmedos, proporcionan las condiciones ecológicas ideales para el desarrollo del mosquito vector.

Es de importancia que los Médicos Veterinarios tengan una mejor percepción de esta parasitosis de índole mundial, que además es una zoonosis afortunadamente asintomática. Igualmente es trascendente que el profesional esté capacitado para enfrentar una enfermedad emergente, saber controlarla y convertirla en un mal menor.

Las condiciones tropicales del Centro Poblado La Cruceta, la excesiva presencia de mosquitos que son transmisores de la “dirofilariasis”, la ausencia de profesionales médicos veterinarios y el desconocimiento de los propietarios sobre esta enfermedad parasitaria que afecta seriamente a la salud de sus perros permite la posibilidad de la presencia de animales parasitados con este nematodo, siendo un peligro latente para la población humana.

Por estas razones, se realizó este estudio que tuvo como objetivo determinar la prevalencia de Dirofilariasis canina en el centro poblado de La Cruceta, distrito de Tambogrande, provincia de Piura, y contribuir con el conocimiento de esta parasitosis.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Morales (2013), realizó una investigación en el área urbana del distrito de Catacaos, Provincia de Piura, Departamento de Piura (PERU) entre los meses de Julio y Setiembre del 2013, planteando como objetivo determinar la prevalencia de dirofilariasis canina mediante el método de Knott modificado. Para determinar si las variables de edad, sexo y permanencia en el domicilio constituyen factores de riesgo para la enfermedad se utilizó la prueba de Chi cuadrado, acompañada por el cálculo del factor de riesgo Odds ratio. Se analizaron 231 muestras de sangre de perros mayores de 6 meses de edad recolectadas entre las 6 y 8pm; de las cuales 11 resultaron positivas obteniendo una prevalencia de $4,8 \pm 2,8\%$. Los factores sexo y edad se asociaron significativamente ($\text{Sig.} 0.05 >$) con la presencia de dirofilariasis. De acuerdo al sexo los machos fueron los más afectados, con un factor de riesgo de 6 y con respecto a la edad la mayor prevalencia fue para perros mayores de 4 años obteniendo un factor de riesgo de 4 para ellos. No se encontró relación significativa entre la permanencia en el hogar y la presentación de la enfermedad. Se concluye que la dirofilariasis se encuentra presente en el distrito de Catacaos con una baja prevalencia. (11)

Soto (2007), muestreó 336 canes en el municipio de Roatán, Islas de la Bahía Honduras con el fin de determinar la incidencia de la *Dirofilaria immitis* por medio del método de Knott. Se encontró una prevalencia del 30%. De esto se dividió los positivos en tres diferentes categorías que fueron: raza, edad y sexo. Según la raza; aquellos que no tenían caracteres propios de una raza (criollos) tuvieron una prevalencia de 33,33%. De ahí que otras razas como los Rottweiler tuvieron una prevalencia del 10%, el Pastor Alemán 21,43%, Doberman 16,67%. Luego según la edad; se muestreo a animales entre las edades de 1 a 6 años, obteniendo resultados en 2 rangos: de 1 a 2 años y de 3 a 4 años. En el primer grupo la prevalencia fue de

4,76% mientras que en el segundo grupo la prevalencia fue de 40%. Y por último, con respecto al sexo del animal, no se estima que haya una especificidad; la prevalencia en machos fue de 25,33%; y en hembras fue de 33,87%. (17)

Cruzado y col. (2006), realizaron entre el año 2004 y 2006 un estudio denominado “Incidencia de dirofilariasis en caninos mestizos de los distritos de Chiclayo y Lambayeque”, mediante necropsia de 100 perros criollos, se encontraron 19 positivos, de los cuales 14 fueron machos (14%) y 05 hembras (5%) haciendo un porcentaje total de 19% para la incidencia de dirofilariasis. (7)

Tantaleán y col. (2004), realizaron un trabajo de investigación denominado “Determinación de la incidencia de *Dirofilaria immitis* en caninos de los distritos de Piura y Castilla”. Se analizaron 215 muestras donde se obtuvo una incidencia de 32,6%. La incidencia fue de 24,4% para el Distrito de Castilla mientras que para el distrito de Piura fue de 43,5%. (19)

Corimanya y col. (2004), realizaron una investigación de Mayo a Junio del 2002 con el fin de evaluar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los caninos del distrito de San Juan de Lurigancho (ribereño al río Rímac), se tomaron al azar muestras de sangre de 107 perros, aparentemente sanos, mayores de 6 meses, sin distinción de raza o sexo. Se utilizó para su diagnóstico la prueba enzimática de ELISA (Dirochek. Synbiotic). Se hallaron 6 animales positivos, los cuales representaron una frecuencia de $5,5 \pm 4,7\%$. (6)

Navarro y col. (2003), realizaron un trabajo denominado Prevalencia de dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*) en los perros vagabundos capturados por el centro de zoonosis en las comunas de la ciudad de Bucaramanga, utilizando la prueba de ELISA donde se obtuvo una prevalencia de 16,12% siendo los machos los más afectados de la población entre edades de 4 a 5 años. (14)

Acuña y col. (2001), realizaron un estudio para determinar la Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los distritos de San Martín de Porres, Lima y Rímac de Lima Metropolitana utilizando tres pruebas de diagnóstico de laboratorio el método de micro capilar, Knott modificado y la prueba enzimática de ELISA donde se encontró con el método micro capilar y el Knott modificado una tasa de infección del 0,81%; mientras que con la prueba de ELISA una prevalencia de 4,7% \pm 3,7%. (1)

2.2. TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA

Taxonómicamente *Dirofilaria immitis* se clasifica de la siguiente manera (18):

- ✓ Phylum: Nematelminthes
- ✓ Clase: Nematoda
- ✓ Orden: Spirurida
- ✓ Suborden: Spirurina
- ✓ Superfamilia: Filaroidea
- ✓ Familia: Filariidae
- ✓ Género: *Dirofilaria*
- ✓ Especie: *Dirofilaria immitis*

Las hembras miden de 13,5 a 30 cm de largo y de 1 a 1,3 mm de diámetro. La vulva se encuentra ligeramente detrás del esófago. Su extremo caudal es redondeado y no enrollado. Son ovovivíparas, liberando microfilarias a la circulación. (16)

Los machos son de menor tamaño, miden 9,5 a 20 cm de largo, con 0,7 a 0,9 mm de diámetro. Su extremo posterior termina en espiral. Posee espículas desiguales en forma y tamaño, la derecha es corta y roma de 175 a 229 μ m de longitud y la izquierda larga y afilada de 300 a 375 μ m, no posee gubernáculo. Su extremo posterior está provisto de dos pequeñas aletas laterales, además posee 4 a 5 pares de papilas preanales más un par de papilas grandes y 4 a 5 papilas pequeñas postanales. (16)

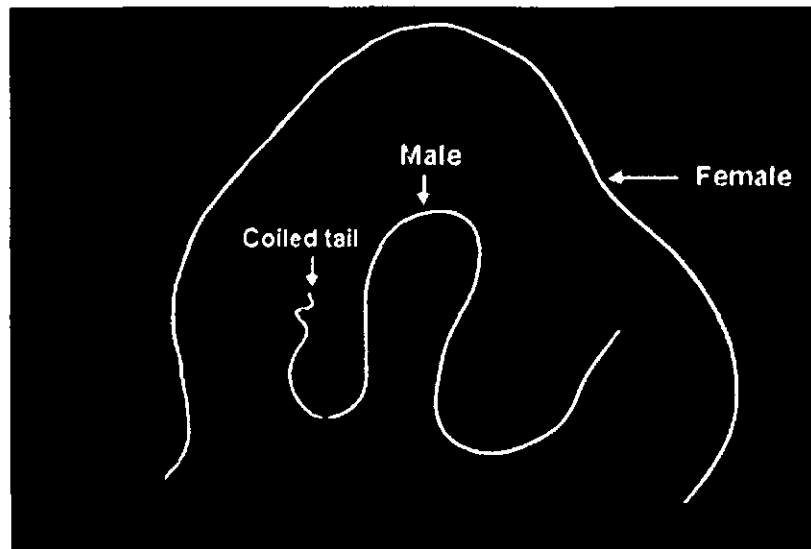


Fig. 1.- En el centro, *Dirofilaria immitis* macho, con la cola en forma de tirabuzón; por fuera una hembra de *Dirofilaria immitis* (15)

Las microfilarias en promedio miden alrededor de 308 μm de largo (con un rango de 295 a 325 μm .) y 5 a 7,5 μm de ancho, fusiformes, el extremo cefálico es ahusado y el extremo caudal puntiagudo y recto, no poseen vaina. (17)

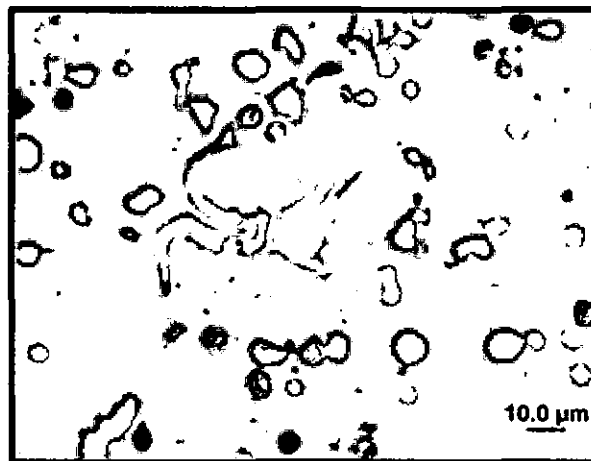


Fig. 2.- Microfilaria de *Dirofilaria immitis* (15)

2.3. CICLO BIOLÓGICO

Las hembras y los machos de *Dirofilaria immitis* se aparean y la hembra pone L1, comúnmente llamadas "microfilarias," que circulan por la sangre. Las microfilarias de algunas especies conservan la cáscara del huevo como una vaina tremendamente estirada alrededor de su cuerpo; *Dirofilaria immitis* no tiene vaina. Como las microfilarias están restringidas a los tejidos de su hospedero y no tienen ninguna manera de pasar a un nuevo hospedero por sí mismas, necesitan de un vector que las saque de los tejidos de ese hospedero y las introduzca en los del próximo. (2)

Los hospederos intermediarios son mosquitos de los géneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Armigeres*, *Myzorhynchus* y *Taeniorhynchus*. Las microfilarias de algunas especies aumentan su concentración en la sangre periférica a las horas en que su vector se alimenta, para facilitar la transmisión. Esta característica se llama "periodicidad". *Dirofilaria* tiene una semiperiodicidad vespertina, pero que varía de un país a otro de acuerdo a la hora de la alimentación de los mosquitos locales. (2)

La periodicidad no es unánimemente reconocida, no está relacionada con la producción (existe también en casos de ausencia de vermes adultos) y se desconoce su razón biológica. (5)

Cuando el insecto ingiere las microfilarias, estas atraviesan la pared intestinal, van a los tubos de Malpigio, y se desarrollan hasta L3 infectantes para el hospedero definitivo en 8 a 17 días, dependiendo en la temperatura imperante. El desarrollo no ocurre por debajo de los 15°C pero, si el mosquito hiberna, las larvas hibernan con él y reanudan su desarrollo cuando la temperatura ambiente sube nuevamente. De allí pasan a la cabeza del mosquito y son depositadas en la piel de un nuevo perro en su próxima comida de sangre. La larva, de alrededor de 1 mm de largo y muy fina, debe buscar una solución de continuidad de la piel, a menudo la misma puntura del insecto, para penetrar al nuevo hospedero. (2)

Una vez en el perro, la L3 muda en el subcutáneo en unos pocos días, y migra por el tejido conectivo intermuscular del abdomen, tórax, y cabeza. Alrededor de los 70 días de la infección, los parásitos ya han mudado al estadio de juvenil, que puede penetrar los vasos sanguíneos. Dentro de los próximos 15 días, se les encuentra en la arteria pulmonar o el corazón; para el día 120 se ven las primeras hembras inseminadas (miden unos 5 a 6 cm de largo en esa época); y a los 7 a 9 meses de la infección aparecen las primeras microfilarias en la sangre. Los adultos en los vasos viven hasta unos 5 años, y las microfilarias en la circulación por cerca de un año. (2)

Puede haber transmisión transplacentaria, encontrándose microfilarias en los cachorros recién nacidos. (2)

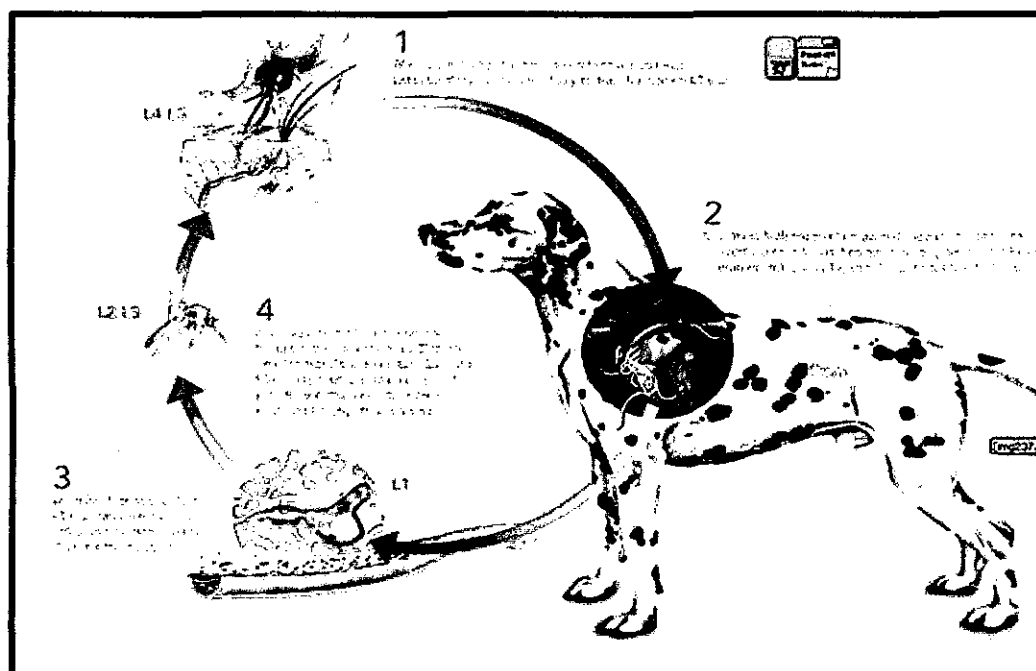


Fig. 3.- Ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* (14)

2.4. DIROFILARIASIS

Dirofilaria immitis es un nemátodo filiforme y cilíndrico, de color blanco que posee una cutícula con estriaciones transversales y longitudinales. En su extremo anterior que no se adelgaza se encuentran: apertura oral pequeña con labios, cápsula bucal rudimentaria sin órganos de fijación, diez pequeñas papilas cefálicas, sin faringe, esófago con porción anterior muscular y posterior glandular no muy bien delimitada. El ano se ubica en posición subterminal. Presentan dimorfismo sexual marcado. (16)

La dirofilariasis tiene varias denominaciones, como por ejemplo verminosis cardíaca, enfermedad por gusanos cardíacos, enfermedad del gusano del corazón o heartworm disease. (16)

La dirofilariasis es una Infestación no contagiosa causada por la presencia y acción de *Dirofilaria immitis* en el corazón derecho y arteria pulmonar en perros y otros canidos. (14)

Las alteraciones más importantes se producen en las arterias pulmonares y en el parénquima, aunque es frecuente que se presenten lesiones en otros órganos, principalmente en los riñones y el hígado. Generalmente, el curso es crónico, pero en primoinfecciones masivas o en animales muy jóvenes pueden presentarse cuadros agudos de curso muy rápido y mortal. (5)



Fig. 4.- *Dirofilaria immitis* en ventrículo derecho y arteria pulmonar de un canino (5)

2.4.1. Reservorios

El principal hospedador definitivo y reservorio de la dirofilariasis es el perro, aunque también pueden tener un papel importante en la transmisión otros cánidos, principalmente lobos, zorros y coyotes. En zorros se han encontrado prevalencias de 28,2 % y en coyotes entre el 13,58 %. (5)

Otros hospedadores definitivos alternativos son los félidos, principalmente el gato, los mustélidos (el hurón) y el león marino de California, en los que hay desarrollo completo del parásito, pero la incidencia de la infección y la intensidad de parasitación son muy bajas y suele cursar con amicrofilaremia. El hombre, algunos félidos silvestres, el oso y el mapache son hospedadores accidentales, en los que el desarrollo no se completa y la infección cursa sin microfilaremia. (5)

Las infecciones amicrofilarémicas carecen de importancia epidemiológica. Estas también pueden presentarse en el hospedador principal por hipersensibilización a las larvas, por infección con vermes de un sólo sexo o por inmadurez de los vermes (período de prepatencia). Amicrofilaremia accidental

transitoria la provocan los tratamientos quimioterapéuticos con fármacos con actividad microfilaricida (p.ej. ivermectina o levamisol). La incidencia de la dirofilariasis con amicrofilaremia es de un 25 %, aunque puede llegar al 80 % en áreas hiperendémicas. (5)

Es poco frecuente que los perros menores de un año alberguen vermes adultos, pero es posible la microfilaremia, si la madre estaba infectada durante la gestación por transmisión transplacentaria que, aunque rara, convierte al cachorro en un reservorio potencial de esta parasitosis. (5)

2.4.2. Factores que determinan la receptividad del perro

La población canina de mayor riesgo es la sometida a constantes contactos con el mosquito vector, tales como los perros no controlados de áreas rurales, los que no tienen un cobijo permanente, los de caza, pastoreo, competición y los que son trasladados a lugares endémicos, aun cuando los desplazamientos sean de corta duración. (5)

El sexo y la raza influyen en la medida en que condicionan la aptitud de esta especie (los machos y determinadas razas son más utilizados para actividades de campo: caza y pastoreo). (5)

La relación que puede establecerse entre la edad y la prevalencia-intensidad de esa parasitosis (las mayores prevalencias se presentan en perros de 3 - 7 años) y las menores tasas de parasitación que pueden presentar los perros de más de 10 años están relacionadas con la vida media del parásito (5-7 años) y con la respuesta inmunitaria del hospedador. (5)

La respuesta inmunitaria es la causa principal del grado de parasitación que presentan los animales que viven en áreas endémicas y de un tercio de las infecciones amicrofilarémicas (dirofilariasis oculta). Hay cierto grado de

protección frente a la reinfección en los animales que ya están parasitados, inmunidad concomitante que influye notablemente sobre la intensidad de parasitación. (5)

2.4.3. Vectores

Al menos setenta especies de culícidos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son receptivos a *Dirofilaria immitis*, aunque la capacidad de transmitirla solamente ha sido demostrada en diez especies: siete de *Aedes*, dos de *Anopheles* (*Anopheles quadrimaculatus* y *Anopheles bradley*) y *Culex salinarius*. (5)

Condicionan la capacidad y eficiencia vectorial de los mosquitos el desarrollo de las piezas bucales, la capacidad anticoagulante de la saliva, una rápida respuesta inmunitaria con encapsulación melanótica de las larvas del parásito, el número de tomas de sangre para la realización de las puestas, la prolificidad y el rango de vuelo. El número de generaciones anuales influye sobre las densidades de población y estacionalidad (una generación, altas poblaciones al comienzo de la primavera; más generaciones, alta población durante toda la época templada). (5)

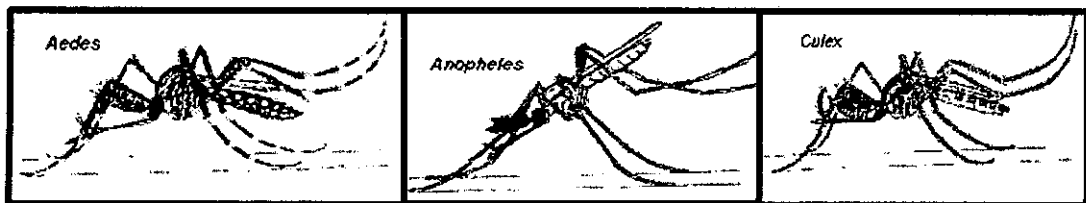


Fig. 5.- Vectores de *Dirofilaria immitis* (5)

2.4.4. Factores ambientales

Los culícidos requieren un medio húmedo para el desarrollo de sus larvas y temperaturas medias superiores a los 14 °C para completar su ciclo biológico. El tamaño de la población depende de la temperatura, humedad relativa, lluvias e

intensidad de luz. El viento y la intensidad de luz son factores importantes en la dispersión de los vectores y consecuentemente, en la dirofilariasis. (5)

El parásito completa su desarrollo en el mosquito en 2 semanas a temperaturas de 14-16 °C y en una a temperaturas medias de 25 °C (mínimo 6 días). El desarrollo se inhibe a temperaturas inferiores a los 12 °C, aunque las larvas de *Dirofilaria immitis* pueden sobrevivir en el mosquito hibernante y completar el desarrollo cuando las temperaturas superan ese umbral. (5)

2.5. PATOGÉNESIS

2.5.1. Hipertensión pulmonar

En infecciones crónicas, hay una importante reducción de la luz arterial y de la elasticidad del sistema arterial pulmonar, debido a la endoarteritis pulmonar proliferativa y a la trombo-embolización asociada con proliferaciones vellosas desgarradas y émbolos de vermes. (16)

Lo anterior provoca un incremento de la resistencia al flujo sanguíneo que, en caso de ser grave, conduce a un aumento de la presión en la arteria pulmonar, lo que se define como hipertensión pulmonar. (16)

Para que la hipertensión pulmonar sea evidente en reposo, es necesario que se obliteren dos tercios o más del lecho vascular pulmonar. El mejor predictor de la presión en la arteria pulmonar resulta ser el número de tromboémbolos y el tamaño del árbol de la arteria pulmonar ocluido por los mismos. (16)

El mecanismo para que la hipoxia alveolar de por sí genere vasoconstricción, es a través del mediador químico PF2alfa, quien provoca una vasoconstricción local y desvía el flujo de sangre a las regiones pulmonares sanas.

Generalmente, la respuesta del perro a la hipoxia es leve, ya sea de forma aguda con hipertensión pulmonar, o crónica con hipertrofia del músculo vascular. (16)

Las células del endotelio vascular responden a la tensión del daño, aumentando su producción y liberación de histamina, pudiendo ser derivado de las células polimorfonucleares o de mastocitos. Este aumento local, provocaría relajación endotelio dependiente de la arteria pulmonar o quizás cause una descarga de compuestos vasoactivos, como las prostaglandinas. (16)

Por otra parte, *Dirofilaria immitis* libera sustancias estables y biológicamente activas que se han denominado “factor filarial circulante”. Este es uno de los factores responsables de la depresión en la relajación endotelio dependiente, que contribuyen a la hipertensión pulmonar inducida por la dirofilariasis. La liberación del factor se relaciona con el número de vermes hembra, no así con la cantidad de microfilarias circulantes. La lesión histológica generada por el “factor filarial circulante”, en combinación con otros factores, disminuiría la concentración de óxido nítrico producido por las células endoteliales quienes neutralizan la respuesta de vasoconstricción, por aumento de las concentraciones de guanilatociclasa (GMPc) intracelular del músculo liso. Por lo tanto, inhibe el efecto vasodilatador del óxido nítrico, potenciando o acelerando la hipertensión. Además, este factor inhibe la agregación plaquetaria a las células endoteliales e inhibe la proliferación vellosa vascular. (16)

Se cree que la gravedad de los cambios en la arteria pulmonar, junto con el aumento de la resistencia vascular pulmonar y de la presión en la arteria pulmonar, guarda relación con el número de parásitos, número de arterias parasitadas, grado de estrechamiento luminal, nivel diario de actividad física y, sobre todo, la intensidad de la respuesta inmune individual de cada animal frente a las filarias. (16)

La extensión del flujo colateral y la eficiencia del sistema fibrinolítico para restablecer el flujo normal, por reabsorción de los trombos, determina el grado de alteración pulmonar. Las zonas con mayor obstrucción del flujo sanguíneo suelen producir anastomosis. (16)

2.5.2. Fallo congestivo derecho del corazón

La endarteritis provoca pérdida de elasticidad de las paredes arteriales, que no admiten la dilatación requerida para que se mantenga un flujo de sangre normal. Para compensar la disminución de flujo aumentan la presión y el trabajo del ventrículo derecho, con dilatación e hipertrofia del corazón derecho y fallo congestivo por incapacidad para mantener la alta presión de perfusión que se requiere para mover la sangre por los pulmones. (5)

El fallo congestivo del corazón derecho es frecuente en infecciones masivas y en animales sometidos a ejercicio físico. Un signo característico es el aspecto de cansado que presenta el animal, incluso en reposo. La tos y la disnea se agravan, se produce taquicardia, anorexia con pérdida de peso e incluso caquexia. La extravasación plasmática es mayor que en el «*corpulmonale*» y provoca edemas periféricos superficiales y ascitis. Se produce un importante aumento de la presión venosa y del pulso yugular, asociados en muchas ocasiones a hepatomegalia. (5)

2.5.3. Síndrome de vena cava o del fallo hepático

Es particularmente frecuente en animales muy jóvenes (menos de 3 años) y responde a la presencia de más de 100 vermes adultos (excepcionalmente, se puede presentar en infecciones con pocos vermes). Los animales con este síndrome también presentan «*corpulmonale*», pero los signos más importantes se deben a las alteraciones hepáticas. (5)

La presencia del parásito en la aurícula derecha, vena cava caudal y, en ocasiones, venas hepáticas provoca obstrucción del flujo sanguíneo, principalmente en torno a la válvula tricúspide. La presión venosa central se eleva considerablemente y el hígado sufre una fuerte congestión y dilatación de las sinusoides que puede provocar la transformación cavernosa de todo el parénquima hepático. (5)

La disfunción hepática es apreciable por la elevación de todas las enzimas hepatocitarias y de la bilirrubina en sangre. El hígado no puede esterificar el colesterol libre, aumenta el cociente libre/esterificado y, consecuentemente, los glóbulos rojos acumulan en su pared colesterol libre, son muy frágiles y se rompen al contacto con los vermes. La hemolisis es constante y el hígado no metaboliza toda la hemoglobina, por lo que rápidamente se produce hemoglobinemia y hemoglobinuria. La anemia normocrómica y normocítica se agrava por la anorexia. Las mucosas están pálidas o ictericas y el animal presenta gran debilidad y depresión. (5)

La interacción del parásito con la válvula tricúspide provoca murmullo sistólico, apreciable a la auscultación. Las posibilidades de vida del animal con síndrome de vena cava son escasas si no se extraen rápidamente los vermes. Por venotomía yugular con fórceps o «pinzas aligátor» se elimina el parásito, desapareciendo los signos de este síndrome en 24 horas. (5)

2.5.4. Neumonitis alérgica

Es debida a la hipersensibilización del perro a los antígenos de las microfilarias, que son rápidamente capturadas e inmovilizadas en la microcirculación del pulmón y destruidas en los capilares pulmonares y septos alveolares, lo que provoca infiltración granulomatosa densa, apreciable radiológicamente. Provoca un grave distrés respiratorio, conocido como

neumonitis alérgica por dirofilariasis, de similares características a la eosinofilia pulmonar tropical que provoca esta filarí en seres humanos. (5)

En esta intensa reacción granulomatosa están implicados neutrófilos, eosinófilos y macrófagos y su adhesión a las microfilarias parece depender de los anticuerpos y del complemento. Los anticuerpos desencadenantes de este tipo de adhesión, conocida como reacción de Pandit, son estadio y especie específicos. Se desconoce si esta embolización de las microfilarias contribuye a la hipertensión pulmonar. (5)

Todos los perros con neumonitis alérgica (dirofilariasis oculta) presenta enfermedad crónica progresiva con tos seca, disnea, intolerancia al ejercicio y ruido bronquial (crepitación). (5)

2.5.5. Tromboembolización

El parásito vivo resiste a la tromboembolización, pero cuando muere se produce trombosis masiva e inflamación granulomatosa de la pared de las arterias. El endotelio se desorganiza y la proliferación vellosa de la íntima aumenta exageradamente. La permeabilidad aumenta, por lo que se agrava el edema perivascular. Los fragmentos del parásito son calcificados parcialmente e incorporados a la pared de la arteria, que presenta gran cantidad de tejido conectivo fibroso. Los trombos y la rigidez de estas arterias lesionadas agravan considerablemente la hipertensión pulmonar y con ello la tos, la disnea y la intolerancia al ejercicio, siendo frecuente que el animal entre en fallo congestivo cardíaco o muera, si con anterioridad ya presentaba esta alteración. La trombosis y la lisis de los coágulos puede provocar un déficit local de los factores de coagulación, coagulopatía intravascular diseminada (CID) que causa hemorragias multifocales. La hemoptisis y la epistaxis son muy frecuentes pudiendo sobrevenir la muerte por choque hipovolémico. Estos animales suelen presentar una elevación

importante de la temperatura corporal, taquicardia, debilidad y mucosas pálidas.
(5)

Esta patología es muy importante cuando se provoca la muerte brusca del parásito por administración de un adulticida, complicación tromboembólica que debe considerarse siempre que se realice el tratamiento quimioterapéutico de la dirofilariasis. (5)

2.5.6. Alteraciones hepáticas y renales

El hígado en perros con hipertensión pulmonar suele presentar congestión pasiva leve, que no afecta a la funcionalidad y es apreciable en cortes histológicos por dilatación de sinusoides y áreas focales con retención de sangre. En el fallo congestivo del corazón, el hígado está más afectado, la retención de sangre provoca hepatomegalia y alteración de la funcionalidad de los hepatocitos, apreciable por el perfil enzimático que presentan los perros. (5)

Los riñones suelen presentar importantes alteraciones, derivadas fundamentalmente de la formación de inmunocomplejos. Casi todos los perros con dirofilariasis crónica presentan glomerulonefritis membranosa por engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares. Esta glomerulopatía es debida a la adhesión de complejos inmunitarios, en los que están implicados los antígenos circulantes (solubles) de los adultos y de las microfilarias, las IgG e IgM y el complemento. La glomerulonefritis puede dar paso a una nefrosis grave con proteinuria. Otra importante alteración inmunopatológica es la nefritis intersticial con infiltrado de células plasmáticas, linfocitos y macrófagos en el intersticio medular y cortical. Estas lesiones suelen aparecer de forma focal o difusa. (5)



Fig. 6.- Hemorragia pulmonar (flechas); véase también el aspecto rugoso y fibroso del hígado de un perro con dirofilariasis avanzada (5)

2.6. SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos de la enfermedad por gusano cardíaco dependen del estadio del ciclo vital, la severidad de la infección y la respuesta del huésped a la infección. La llegada inicial de L5 a los pequeños vasos de los pulmones se asocia con una intensa reacción eosinofílica y un patrón radiográfico difuso. (13)

La detección de la hipertensión pulmonar en las fases iniciales de la dirofilariasis es difícil, pues los cambios en las arterias son discretos. La presión en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar permanece normal o ligeramente elevada durante el gasto cardíaco en reposo. Muchos perros son totalmente asintomáticos o presentan signos tan discretos que pasan desapercibidos. (5)

Se puede desarrollar ascitis en la insuficiencia cardíaca derecha por *corpulmonale*, o por disfunción mecánica de la válvula tricúspide como en los síndromes poscava. (10)

Los signos de hipertensión pulmonar más frecuentes son: tos, disnea y una menor tolerancia al ejercicio. Según se agrava la enfermedad aparecen síncope, hemoptisis y pérdida de peso, aun con buen apetito. La epistaxis asociada a trombocitopenia puede presentarse en perros con enfermedad arterial pulmonar grave y complicaciones trombo-embólicas. Puede aparecer antes del tratamiento adulticida por coagulopatía intravascular diseminada, pero son más frecuentes estos signos 2-3 semanas después de un tratamiento adulticida. (5)

La forma más frecuente de presentación del síndrome de vena cava es la aparición brusca de un choque cardiogénico con taquicardia, taquipnea, disnea y colapso, asociados a una hemoglobinuria masiva. En el examen cardiovascular de estos perros se aprecia pulso yugular sistólico, soplo de insuficiencia tricuspídal y, a veces, taquicardia supraventricular. La aparición brusca de hemoglobinuria, bilirrubinuria y debilidad asociados a un soplo holosistólico o de regurgitación tricuspídal, deben ser siempre sospecha de una dirofilariasis con síndrome de vena cava, únicos hallazgos físicos que pueden considerarse patognomónicos de la dirofilariasis. (5)

Los animales con neumonitis alérgica presentan signos de enfermedad crónica; la tos es seca e intermitente y la disnea va asociada a crepitaciones. (5)

2.7. DIAGNÓSTICO

La dirofilariasis se sospecha en perros de más de 2 años con tos crónica, disnea de esfuerzo, o intolerancia al ejercicio, estertores, hemoptisis y alteraciones cardiovasculares como lipotimias o soplos cardiacos en zonas donde se sabe que existe la infección. (2; 16)

2.7.1. Clínico

Debe evaluarse el estado general y funcionalidad hepática, renal y cardíaca, pues, aunque no existe ningún signo clínico que pueda ser considerado patognomónico de esta parasitosis, antes de instaurar un tratamiento curativo es obligado conocer el estado clínico del animal. (5)

El grado de alteración cardiopulmonar puede determinarse por radiología y ecocardiografía. La funcionalidad hepática y renal por pruebas bioquímicas; uremia, creatinina, BUN, AST y ALT son las más adecuadas. Una buena aproximación al diagnóstico etiológico puede realizarse con la ecocardiografía, especialmente aconsejable en caso de sospecha de síndrome de vena cava. (5)

2.7.2. Etiológico

La inespecificidad de la mayor parte de los datos clínicos aconseja el diagnóstico etiológico, que incluye detección de microfilarias y su identificación específica y si es negativo, pruebas de inmunodetección (antígenos, principalmente). (5)

La muestra debe tomarse en la tarde, que es cuando hay mayor concentración de las larvas en la sangre periférica, y observarlas en frote directo, con el método de enriquecimiento de Knott, o con la técnica del filtro, que son sucesivamente más sensibles. (3)

2.7.2.1. Frote de gota gruesa (3)

- ✓ Colocar 2 ó 3 gotas de sangre fresca (sin anticoagulante) en el centro de un portaobjeto y mescle en círculos suavemente con la esquina de un cubreobjetos repartíendola en un área de unos 2 cm².

- ✓ Dejar secar el frote por varias horas (hasta que esté totalmente seco) bajo una cápsula de Petri invertida para protegerla del polvo y las moscas. Si el portaobjeto no estuvo inmaculadamente limpio, o el frote estuvo muy grueso o no se secó completamente, la sangre puede desprenderse del vidrio durante la tinción
- ✓ Preparar una solución de 1 parte de tinción comercial de Giemsa en 49 partes de una solución tamponada de pH 6,8 a 7,2 (1:50), cubra el frote con esta solución, y dejarlo teñir por 45 minutos. Como no se fijó con metanol previamente, y la solución de Giemsa está demasiado diluida para fijar, los eritrocitos se hemolizan y liberan los parásitos intraeritrocitarios (como las Babesias).
- ✓ Descartar la tinción, lavar el extendido bajo un chorro suave de agua de la llave por 3 a 5 minutos, dejarlo secar verticalmente, y observarlo al microscopio con 40X, 60X, e inmersión.

2.7.2.2. Técnica de Knott (3)

- ✓ Obtener alrededor de 1,5 ml de sangre fresca o con anticoagulante (citrato, EDTA, o heparina). Si la microfilaria bajo investigación muestra periodicidad, tomarla a la hora que es más abundante en la sangre periférica.
- ✓ Colocar 1 ml de la sangre en un tubo de centrifuga, agregarle 9 ml de formalina al 2%, y mezclar vigorosamente. Esto hemoliza los eritrocitos pero preserva las microfilarias.
- ✓ Centrifugar el tubo a 300 G (unas 1200 revoluciones por minuto en una centrífuga con un cabezal de 18 cm de radio) por 2 ó 3 minutos, y descartar tanto sobrenadante como le sea posible.
- ✓ Tomar alrededor de la mitad del sedimento con una pipeta de Pasteur, distribuirlo sobre un portaobjeto, dejarlo secar, y teñirlo con Giemsa como en el frote delgado (la tinción se puede omitir, vea más bajo).

- ✓ Agregue 1 gota de azul de metileno al 0,1% al resto del sedimento para teñir los parásitos, mezcle bien, llévelo a un portaobjeto con una pipeta de Pasteur, cúbralo con un cubreobjetos, y examine con 10X en busca de microfilarias. Si encuentra microfilarias, examine la preparación teñida con Giemsa para observar las características identificantes de las microfilarias. En lugares donde no hay necesidad de estudiar la morfología de las microfilarias para distinguirlas entre sí, se puede omitir la tinción con Giemsa.

2.7.2.3. Prueba del filtro (3)

- ✓ Mezclar la sangre con la formalina como se indicó para la técnica de Knott pero dentro de una jeringa. Luego se pasa la mezcla a través de un filtro con poros de 5 µm, en un porta-filtros apropiado adosado a la jeringa. Las membranas de los eritrocitos pasan a través del filtro pero las microfilarias quedan retenidas en él.
- ✓ Pasar 10 ml de agua de la llave 3 veces a través del filtro para lavar las microfilarias libres de residuos, y enseguida se pasan 10 ml de aire para eliminar tanto líquido como sea posible.
- ✓ Remueva el filtro, se pone sobre un portaobjeto, y se cubre con 1 ó 2 gotas de azul de metileno al 0,1% para teñir las microfilarias. Cubra con un cubreobjetos y se observa al microscopio con 10X. Todos los materiales para esta prueba se pueden comprar individualmente, pero también se venden juegos comerciales con todos los implementos necesarios.
- ✓ Tanto la técnica de Knott como la del filtro son muy eficientes para demostrar microfilarias pero los parásitos quedan derechos con la primera técnica y enredados con la segunda. Por eso se prefiere la técnica de Knott cuando es importante medir el tamaño de las microfilarias. Las microfilarias de *Dirofilaria immitis* se distinguen de

las de *Dipetalonema reconditum* por su largo y grosor (295 - 325 x 5,0 - 7,5 µm para la primera y 250 – 288 x 4,5 - 5,5 para la segunda). (2)

2.7.2.4. Método del micro capilar (Test de Woo) (3)

- ✓ Para la realización de esta prueba proceda al llenado de los microcapilares y al posterior sellado de uno de los extremos con plastilina. Las muestras son llevadas a centrifugar a 12 800 rpm por 5 minutos luego de lo cual se realiza la lectura del porcentaje del volumen del paquete celular y la observación de la zona flogística para determinar la presencia de las microfilarias con la ayuda de un microscopio de luz convencional. El inconveniente de este método es de no se poder diferenciar entre las microfilarias de *Dirofilaria immitis* y de *Dipetalonema reconditum*. (1)

2.7.3. Inmunodiagnóstico

El inmunodiagnóstico se recomienda en animales con signos clínicos que sugieren la enfermedad, pero con diagnóstico de microfilaremia negativo. Se pueden detectar anticuerpos o antígenos específicos del parásito adulto, en ambos casos mediante pruebas comerciales basadas en el enzimo-inmuno-ensayo o la aglutinación, principalmente. La sensibilidad es menor en infecciones con microfilaremia, pudiendo llevar a resultados negativos falsos, por lo que previamente debe realizarse detección de microfilarias. (5)

Las pruebas de detección de anticuerpos presentan una gran sensibilidad llegando a detectar infecciones con pocos vermes y a los 6 meses de la penetración de las L3. Las de detección de antígenos son 100 % específicas, pero su sensibilidad es baja en infecciones recientes (menos de 10-12 meses) y en las producidas por 1 - 3 adultos. (5)

2.7.4. Radiografías

Las radiografías pueden ser una herramienta de cribado para los perros con signos clínicos sugestivos de enfermedad por gusano cardíaco. (3)

En los perros, las arterias pulmonares pueden estar tortuosas y agrandadas, con dilatación del segmento de la arteria pulmonar situado en la posición A al 1 en vista anteroposterior. El crecimiento ventricular derecho puede no notarse si la hipertrofia no ha sido inducida por actividad física o lesiones vasculares severas. Los cambios pulmonares parenquimatosos pueden ser difusos en la infección precoz por L5, pero también puede llegar a granulomatoso en las infecciones crónicas severas. (13)

2.7.5. Ecocardiogramas

Son diagnósticos, con típicas líneas blancas “dobles paralelas” en las arterias pulmonares o los ventrículos derechos de los perros. Los ecocardiogramas son especialmente útiles en los síndromes poscava y las situaciones de ascitis asociadas a la enfermedad por gusano cardíaco. La típica desviación a la derecha del eje y las ondas S profundas se en el ECG solo si la hipertrofia ventricular izquierda es significativa. (13)

2.8. PREVENCIÓN

Dado el número de especies de mosquitos capaces de transmitir *Dirofilaria immitis*, el control de la transmisión a nivel del vector es virtualmente imposible, como lo han demostrado los esfuerzos, a menudo infructuosos, para controlar la malaria humana en muchos países. La única medida eficaz de control ha sido administrar drogas quimioprolácticas a los animales en riesgo de infección. (2)

El tratamiento preventivo se debe realizar desde el comienzo de la época de vuelo de los mosquitos vectores hasta 1 - 2 meses después de su desaparición. Este período puede ser muy diferente de unas zonas a otras. En general, en gran parte de España podemos considerar que este período se extiende desde marzo o abril hasta octubre o noviembre. En algunas zonas del sur de España y en las islas Baleares y Canarias la temperatura mínima media no baja de 10 °C, por lo que es posible la transmisión (infección) a lo largo de todo el año. (5)

Dietilcarbamazina, en dosis de 5,5-6,5 mg/kgpv, todos los días durante el período de riesgo. La dietilcarbamazina produce shock anafiláctico cuando existe microfilaremia y la muerte en un 10 - 20 % de estos perros. Este fármaco se cree que inhibe el desarrollo de las L1- 4 en los procesos de muda de L3 a L4 (9-12 días pi) o de L4 a L5 (60 días pos infección). (5)

Ivermectina, en dosis de 3-12 µg/kgpv cada mes durante el período de riesgo. (2)

Es eficaz frente a las L3 y L4. A estas dosis no se han descrito efectos adversos. (5)

Milbemicina, en dosis de 500 a 1000 µg/kgpv, una vez al mes todos los meses de riesgo. (2)

Moxidectina; estudios de campo han demostrado que la moxidectina en dosis de 3 mg/kgpv, administrada mensualmente durante el periodo de riesgo, es 100 % eficaz en la prevención de la infección. (5)

2.9. TRATAMIENTO

Se recomienda como tratamiento Clorhidrato de Melarsonina en dos aplicaciones 2,5mg/Kg por dosis.(2)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODO

3.1. LUGAR EXPERIMENTAL

El lugar experimental donde se realizó la investigación fue el Centro Poblado La Cruceta, distrito de Tambogrande, que pertenece a la provincia de Piura. El Centro Poblado tiene una temperatura media de 24°C y un promedio de humedad de 73% y con precipitaciones pluviales con 200mm. (12)

Geográficamente está comprendida entre los paralelos 4° 42' a 5° 49' de Latitud Sur y entre los Meridianos 79° 27' a 80° 52' de Longitud Oeste. Limita al norte con los distritos de Sullana y Las Lomas (referente Canal Tablazo hasta El Partidor), al este con los distritos de Sapillica y Frías de la Provincia de Ayabaca, al sur con el distrito de Chulucanas de la Provincia de Morropón, y al oeste con los distritos de Piura y Castilla Provincia de Piura. (12)

El lugar donde se analizaron las muestras tomadas fue el laboratorio de Sanidad animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Piura

3.2. ANIMALES DEL ESTUDIO

Lo constituyeron 75 canes de diferentes edades y sexo, seleccionados por medio de un muestreo accidental, dentro de la jurisdicción del centro poblado Cruceta (8)

3.3. PERÍODO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó durante el mes de Abril del 2014.

3.4. MATERIALES Y EQUIPO

3.4.1. De campo

- ✓ Tiros o soguillas
- ✓ Bozal
- ✓ Guantes
- ✓ Tijeras
- ✓ Alcohol 96%
- ✓ Algodón
- ✓ Aguja vacutainer®
- ✓ Sujetador (capuchón)
- ✓ Tubos vacutainer® con anticoagulante
- ✓ Marcador indeleble
- ✓ Gradillas
- ✓ Cooler
- ✓ Fichas clínicas

3.4.2. De Laboratorio

- ✓ Formalina al 2%
- ✓ Azul de metileno al 0,1%
- ✓ Agua destilada
- ✓ Láminas portaobjetos
- ✓ Láminas cubreobjetos
- ✓ Tubos de ensayo de vidrio
- ✓ Jeringas
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Centrifuga Marca: JANETZKI, Modelo: T32C
- ✓ Microscopio Óptico, Marca: LABOMEB, Modelo: CX L

3.4.3. De Redacción

- ✓ Lapiceros
- ✓ Papel Din A4.
- ✓ Folder de manila.
- ✓ Fastener.
- ✓ Computadora
- ✓ Impresora

3.5. METODOLOGÍA

3.5.1. Universo o población

El último censo realizado por el departamento de saneamiento ambiental del puesto de salud de La Cruceta, en la campaña de vacunación antirrábica, arrojó una población de 634 canes. (8)

3.5.2. Muestra

Se obtuvieron muestras sanguíneas accidentalmente de setenta y cinco canes del centro poblado La Cruceta, distrito de Tambogrande, provincia de Piura, durante el mes de abril del 2014. La toma de muestra sanguínea se obtuvo a la hora recomendada (6-8pm), de la vena cefálica en tubos con anticoagulante a base de ácido etildiaminotetracético (EDTA).

3.5.3. Cálculo de muestra

La muestra se determinó con la siguiente fórmula (3):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \frac{N.p.q}{i^2 (N-1) + Z_{\alpha}^2 .p .q}}{1}$$

Donde:

- n = tamaño de la muestra
N = tamaño de la población (634 perros) (8)
 Z_{α} = 1,96 para $\alpha=0,05$
i = error de la estimación. 10%
p = Prevalencia de Dirofilariosis para Piura y Castilla
q = 1 - p = 0,674

Remplazando en la fórmula:

$$n = 1,96^2_{0,05} \frac{634 \times 0,219724}{0,1^2 (634-1) + 1,96^2_{0,05} \cdot 0,219724}$$

$$n = 3,8416 \frac{139,3050}{0,01 (633) + 3,8416 \times 0,219724}$$

$$n = 3,8416 \frac{139,3050}{6,33 + 0,84409172}$$

$$n = 3,8416 \frac{139,3050}{7,1741}$$

$$n = 74,5952 = 75$$

Por tanto se trabajó con 75 canes en esta investigación

3.5.4. Procedimiento de toma de muestra

- ✓ La toma de muestras se realizó entre las 6 – 8pm.
- ✓ Con el apoyo de un ayudante se sujetó al canino y se le colocó el bozal.
- ✓ Se rasuró el área donde se practicó la punción (vena cefálica) y se realizó la asepsia frotando un algodón humedecido en alcohol.
- ✓ Se retiró la tapa blanca de la aguja vacutainer®; se enroscó al sujetador y se retiró la otra tapa de la aguja
- ✓ El ayudante realizó la hemostasia para facilitar la extracción de la muestra.
- ✓ Se realizó la punción de la vena cefálica.
- ✓ Se acopló el tubo al vacío y se obtuvo la muestra de sangre

- ✓ Se retiró el tubo con la muestra y luego se retiró el sujetador
- ✓ Se volvió a realizar la asepsia de la zona.
- ✓ Se movió el tubo que contenía la muestra suavemente de lado a lado.
- ✓ Se rotuló el frasco indicando raza, sexo, edad, identificación del animal y fecha de recolección.

3.5.5. Procedimiento de análisis de laboratorio

- ✓ Con ayuda de una jeringa se extrajo cuidadosamente 1 ml de la muestra de sangre obtenida y se colocó en un tubo de centrifuga previamente identificado.
- ✓ Con otra jeringa se agregó 9 ml de formalina al 2%, y se mezcló con la sangre vigorosamente.
- ✓ Se colocó los tubos en la centrifuga convencional y se centrifugo a 1200 rpm durante 2 a 3 min.
- ✓ Una vez centrifugadas la muestra se eliminó tanto sobrenadante cómo fue posible y se colocó los tubos en una gradilla.
- ✓ Se agregó una gota de azul de metileno al 0,1% al sedimento obtenido y se mezcló bien.
- ✓ Con la ayuda de una pipeta Pasteur se tomó una muestra de la mezcla anterior y se colocó una gota en una lámina portaobjeto y se cubrió con una lámina cubreobjetos.
- ✓ Se llevó al microscopio y se realizó la observación de microfilarias a 40X.

3.5.6. Determinación de la prevalencia

Para el análisis estadístico, la prevalencia P fue calculada mediante la siguiente fórmula (4):

$$P = \frac{\text{Nº de muestras positivas}}{\text{Nº de muestras totales}} \times 100$$

Se consideraron positivas aquellas muestras en las que se observaba una o más microfilarias.

3.5.7. Intervalo de confianza

El intervalo de confianza nos ayudó a determinar el grado de dispersión de los datos.

El intervalo de confianza fue calculado con la siguiente fórmula (4):

$$IC = p \pm Z \sqrt{\frac{p * q}{n}}$$

Donde:

p = Prevalencia obtenida

Z = 1,96

q = 1-p

n = Número de muestras

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS CANINOS MUESTREADOS

En el presente estudio se analizaron muestras de sangre de 75 perros, de los cuales 20 fueron hembras y 55 fueron machos, lo que representa un 26,7% y 73,3% respectivamente; 23 eran menores de 1 año de edad, 45 su edad variaba entre 1 año y 5 años de edad y 7 su edad era mayor a 5 años, lo que representa 30,67%, 60% y 9,33% respectivamente.

Cuadro N° 1: Descripción de los animales muestreados

FACTOR	NIVEL	Nº	%
SEXO	MACHO	55	73,33
	HEMBRA	20	26,67
EDAD	MENOR A 1 AÑO	23	30,67
	1 AÑO A 5 AÑOS	45	60,00
	MAYORES A 5 AÑOS	7	9,33

4.2. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA

De las 75 muestras de sangre analizadas, 21 muestras resultaron positivas, lo que representa una prevalencia de 28%.

Cuadro N° 2: Prevalencia de la Dirofilariasis canina en el CP La Cruceta

TOTAL	POSITIVOS	PREVALENCIA	IC
75	21	28,00	±10,16

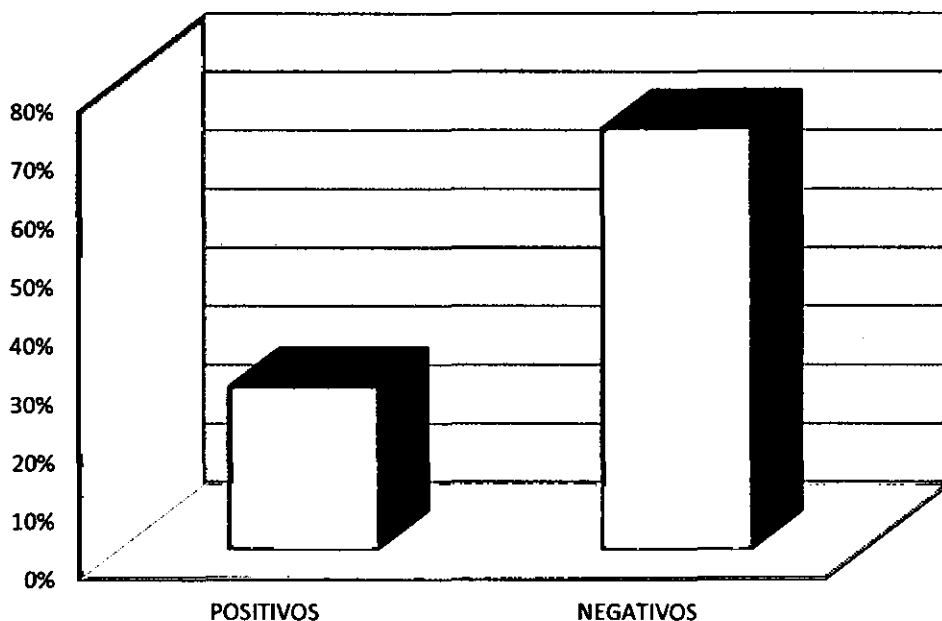


GRÁFICO N° 1: Prevalencia de *Dirofilariasis* canina

Morales (2013), realizó un estudio de dirofilariasis canina en la zona urbana de Catacaos, Provincia de Piura encontrando una prevalencia de $4,8 \pm 2,8\%$, relativamente baja si consideramos las condiciones climáticas que favorecen la presencia de vectores, lo que podría estar ligado a la intervención de profesionales médicos veterinarios, además del uso indiscriminado, de productos con acción microfilaricida (avermectinas), aplicados por empíricos, en comparación con el $28 \pm 10,16\%$ de prevalencia obtenida en el centro poblado la cruceta, donde no hay presencia de Médicos Veterinarios y los perros no son tratados con antiparasitarios de acción microfilaricida.

Tantaleán y col (2004), realizaron un estudio denominado “Determinación de la incidencia de *Dirofilaria immitis* en caninos de los distritos de Piura y Castilla”, en el cual obtuvieron una prevalencia de $32,6\%$, similar al $28 \pm 10,16\%$ encontrado en nuestro estudio esto podría variar en los diferentes métodos de laboratorio

utilizados y a que durante los últimos años se ha incrementado considerablemente el uso de fármacos con acción microfilaricida.

En estudios similares, realizados dentro del país, se encontraron prevalencias de 19% en Chiclayo y Lambayeque (Cruzado y col., 2006), $5,5 \pm 4,7\%$ en San Juan de Lurigancho, Lima (Corimanya y col., 2004), $0,81\%$ y $4,7\% \pm 3,7\%$ en San Martín de Porras, Lima y Rímac de Lima (Acuña y col., 2001), en comparación con el $28 \pm 10,16\%$ de prevalencia obtenido en nuestra investigación, lo que podría deberse a los diferentes métodos de diagnóstico utilizados, y las diferentes condiciones medio ambientales, que favorecen la presencia de los vectores.

4.3. PREVALENCIA DIROFILARIASIS POR SEXO

De las 21 muestras positivas a dirofilariasis canina, 16 fueron machos y 5 hembras, los que representa una prevalencia de 29,09% y 25,00% respectivamente.

Cuadro N° 3: Prevalencia de la Dirofilariasis canina en el CP La Cruceta, por sexo

SEXO	TOTAL	N° POSITIVOS	PREVALENCIA	I.C.
MACHOS	55	16	29,09	$\pm 12,00$
HEMBRAS	20	5	25,00	$\pm 18,97$

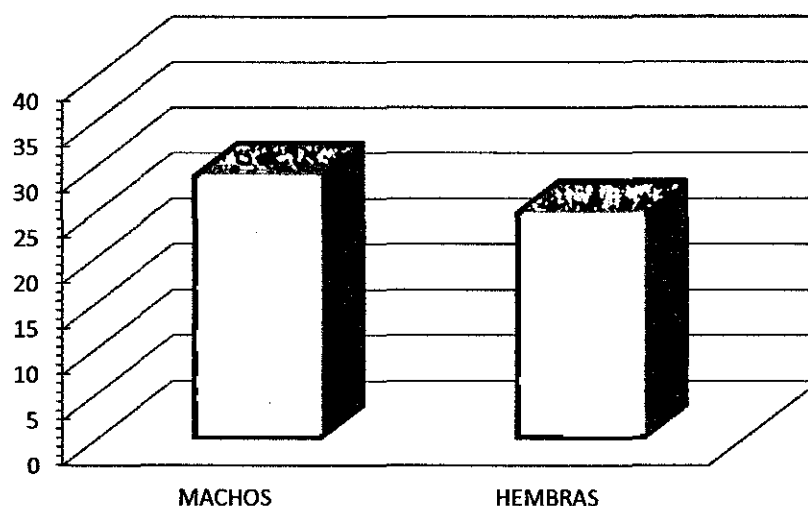


GRÁFICO N°2: Prevalencia de Dirofilariasis por sexo

En nuestra investigación, se encontró que el factor sexo no influye directamente en la presencia de dirofilariasis canina.

En los estudios realizados por Cruzado y col. (2006), y Morales (2013) reportaron una mayor prevalencia en machos que en hembras, coincidiendo con nuestra investigación.

Leguía (2002) menciona que los perros machos son cuatro veces más propensos que las hembras a infestarse por dirofilariasis canina, lo cual no se ha reflejado en nuestra investigación.

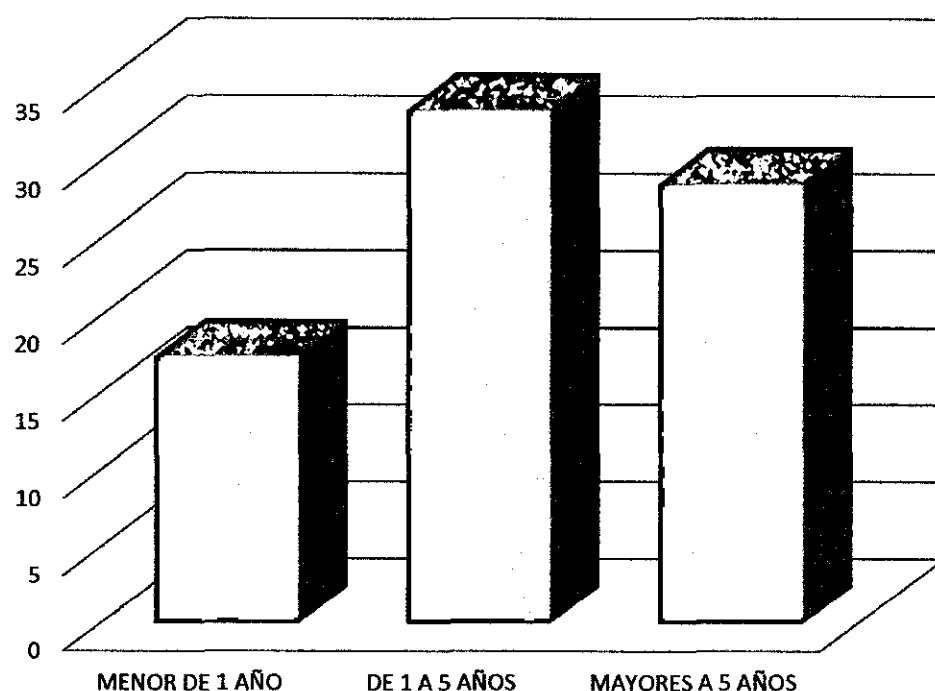
4.4. PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS POR EDAD

De las 21 muestras positivas a dirofilariasis canina, 4 eran menores de 1 año, 15 tenían entre 1 y 5 años y 2 eran mayores a 5 años, lo cual representaba una prevalencia de 17,39%, 33,33% y 28,57% respectivamente.

Cuadro N° 4: Prevalencia de Dirofilariasis canina en el CP La Cruceta, por edad

EDAD	TOTAL	N° POSITIVOS	PREVALENCIA	I.C.
MENOR DE 1 AÑO	23	4	17,39	±15,49
DE 1 A 5 AÑOS	45	15	33,33	±13,77
MAYORES A 5 AÑOS	7	2	28,57	±31,57

GRÁFICO N°3: Prevalencia de dirofilariasis por edad



En nuestra investigación, se encontró que el factor edad influye directamente en la presencia de dirofilariasis canina.

En nuestro estudio, se encontraron 3 perros de 6 meses positivos a *D.immitis*, lo que coincide con lo reportado por Cordero y col. (1999), quien menciona que perros de esa edad pueden llegar a tener microfilarias infectándose por vía transplacentaria.

Soto (2007), reportó una prevalencia de 40% en animales de 3 a 4 años, cercano al $33,3 \pm 13,77\%$ encontrado en nuestra investigación, concordando con Muñoz (2003), quien informa que la incidencia de infección aumenta con la edad.

En nuestro estudio no se encontraron animales infestados de 10 años, concordando una vez más con Muñoz (2003), quien afirma que en animales mayores a esta edad es muy poco probable encontrarlos parasitados, debido a la vida media del parásito, desarrollo de la inmunidad o muerte de los canes.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

1. La prevalencia de dirofilariasis canina en el centro poblado La Cruceta, distrito de Tambogrande, Provincia de Piura, mediante la prueba de Knott modificado es alta.
2. No existe influencia directa del sexo en la prevalencia de dirofilariasis canina.
3. Existe una marcada influencia directa de la edad en la prevalencia de dirofilariasis canina.

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevos estudios de dirofilariasis canina, utilizando otros métodos de diagnóstico, para monitorear la parasitosis.
2. Realizar campañas de control de vectores, para disminuir la prevalencia de dirofilariasis canina.
3. Sugerir a los profesionales médicos veterinarios, realizar pruebas diagnósticas para dirofilariasis y usar fármacos para su tratamiento de acuerdo al estadio biológico del parásito.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue realizado en el Centro Poblado La Cruceta, distrito de Tambogrande, provincia de Piura, teniendo como objetivo evaluar la prevalencia de esta parasitosis en los caninos de la zona. Se tomaron muestras de sangre accidentalmente de 75 perros, aparentemente sanos, con edades entre 6 meses y 7 años, indistintamente del sexo, en abril del 2014, utilizando para el diagnóstico el método de Knott modificado, encontrando una prevalencia alta de $28 \pm 10,00\%$, y determinando que la edad influye directamente en la presencia de la enfermedad, encontrado valores de $17,39 \pm 15,49\%$ en animales menores de 1 año, $33,33 \pm 13,37\%$ en animales de 1 a 5 años y $28,57 \pm 31,57\%$ en animales mayores de 5 años; mientras que el sexo no tienen influencia directa en la presencia de esta, encontrando valores de $29,09 \pm 12,00\%$ en machos y $25,00 \pm 18,97\%$ en hembras. Se concluye que la prevalencia de dirofilariasis canina en el centro poblado La Cruceta es alta.

ABSTRACT

This research work was conducted in the Town Center The crosshead, Tambogrande district province of Piura, aiming to assess the prevalence of this parasite in dogs in the area. Blood samples were taken 75 dogs accidentally, apparently healthy, aged between 6 months and 7 years, regardless of sex, in April 2014, using the diagnosis method modified Knott, finding a high prevalence of $28 \pm 10,16\%$, and determining the age directly influences the occurrence of the disease, found values of $17,39 \pm 15,49\%$ in animals less than 1 year, $33,33 \pm 13,37\%$ in animals 1-5 years $28,57 \pm 31,57\%$ in animals older than 5 years; while sex does not have direct influence on the presence of this, finding values of $29,09 \pm 12,00\%$ in males and $25,00 \pm 18,97\%$ in females. We conclude that the prevalence of canine heartworm in the town center The crosshead is high.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFIA

1. ACUÑA U. & CELIA, P.2001. Determinación de la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los distritos de San Martín de Porres, Lima y Rímac. Disponible: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Acu%C3%B1a_U_P/Resumen_su_mmary.pdf, Visitado: 14/12/13
2. BARRIGA, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Editorial Germinal, Santiago Chile. Pág. 130 – 133
3. CALZADA, B. 1982. Métodos para la investigación. Séptima edición. Editorial Milagros S.A. Lima – Perú. Pág. 643
4. CEPANZO/OPS/OMS. 2000. Nota Técnica N° 18. Procedimientos para Estudios de Prevalencia de Muestreos. Pág. 4
5. CORDERO.M., ROJO F., MARTINEZ A., SANCHEZ M.,HERNANDEZ S., NAVARRETE I, DIEZ P., QUIROZ H. & NAVARRO M. 1999. Parasitología Veterinaria.1ra edición. Editorial Mc Graw – Hill Interamericana. Madrid – España. Pag.679 - 689
6. CORIMANYA J., CHAVEZ A., CASAS E. & DIAZ D. 2004. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* en caninos del distrito de San Juan de Lurigancho. Rev. Inv. Vet. Perú 2004; 15 (2): 141-144. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v15n2/a08v15n2.pdf>, Visitado: 14/12/13
7. CRUZADO F., ARRASCUE M., & OJEDA H., 2006 Incidencia de dirofilariasis en caninos mestizos de los distritos de Chiclayo y Lambayeque. Trabajo de investigación. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
8. DEPARTAMENTO DE SANEAMIENTO AMBIENTAL DEL PUESTO DE SALUD LA CRUCETA. 2012. Censo Canino – Poblacional en La Cruceta, CENTRO DE SALUD – LA CRUCETA –DISTRITO DE TAMBOGRANDE – PROVINCIA DE PIURA
9. LEGUIA, G. (2002). Enfermedades Parasitarias de Perros y Gatos. Epidemiología y Control. Lima, Perú: Editorial de Mar. Pag. 45-57
10. MERCK & COL. 2000. El Manual Merck De Veterinaria. Quinta Edición. Editorial Océano Grupo. Barcelona, España. Pág. 106 -110

11. MORALES J. 2013. "Prevalencia de *Dirofilariasis* en *Canis lupus familiaris* del área urbana de Catacaos en el año 2013". Tesis.
12. MUNICIPALIDAD DISTRITAL DE TAMBOGRANDE. 2014. Geografía Tambogrande. Disponible: <http://munitambogrande.gob.pe/pdf/geografia-tambogrande.pdf>, Visitado: 14/12/13
13. MUÑOZ, M. 2003. *Dirofilaria immitis* Enfermedad del gusano del corazón. Disponible: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvm971d/sources/fvm971d.pdf>, Visitado: 14/12/13
14. NAVARRO, J. & TRIANA J. 2003. Prevalencia de dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*) en los perros vagabundos capturados por el centro de zoonosis en las comunas de la ciudad de Bucaramanga. Colombia. Disponible: <http://bucaramanga.ucc.edu.co/Biblioteca/archivos/Veterinaria/vet%20039.pdf>, Visitado: 14/12/13
15. NOLAN J. 2004. *Dirofilaria immitis* Homepage. University of Pennsylvania. Disponible: http://cal.vet.upenn.edu/dxendopar/parasitepages/filariidsandspirurids/d_immitis.html, Visitado: 14/12/13
16. QUIROZ, H. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. 1ra edición. Editorial Limusa. S.A. México. Disponible: <http://books.google.com.pe/books?id=xRxxXaI1Y6EC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>, Visitado: 14/12/14
17. SOTO S. 2007. Determinación de la incidencia de la *Dirofilaria immitis* por medio del método de Knott, en el municipio de Roatán, Islas de la Bahía. Disponible: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1055.pdf, Visitado: 14/12/13
18. SOULSBY, E. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ma edición, Nueva Editorial Interamericana, México DF. México. Pág.: 307 - 311
19. TANTALEÁN J., REGALADO P. & CARRASCO V., 2004. Determinación de la incidencia de *Dirofilaria immitis* en caninos de los distritos de Piura y Castilla. Informe final de investigación docente. Universidad Nacional de Piura.

ANEXOS

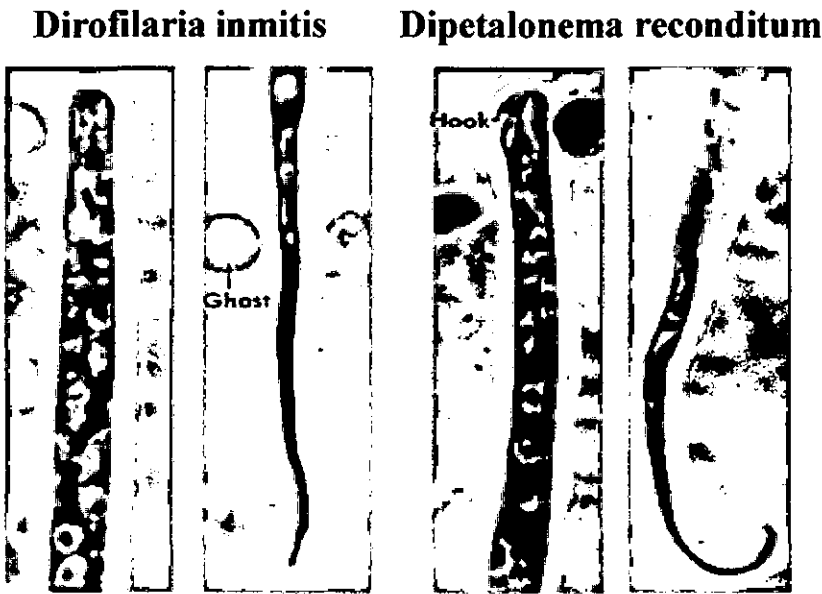
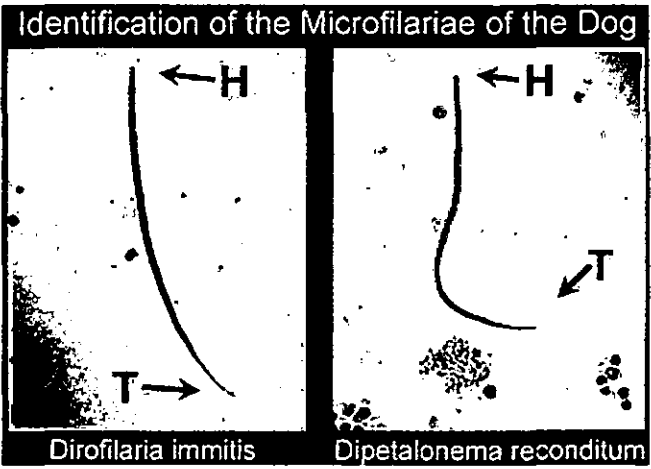
ANEXO 1: BASE DE DATOS

Nº Muestras	Nombre	Sexo	Edad	Resultado
1	Jairo	Macho	6meses	Negativo
2	Dogui	Macho	4años	Negativo
3	Wiro	Macho	3años	Positivo
4	Negro	Macho	4años	Positivo
5	Manzanilla	Hembra	6meses	Negativo
6	Cholo	Macho	6meses	Negativo
7	Negro	Macho	8meses	Negativo
8	Boby	Macho	6meses	Positivo
9	Chacalon	Macho	5años	Negativo
10	Boby	Macho	3años	Positivo
11	Docky	Macho	2años	Positivo
12	Yanco	Macho	6meses	Positivo
13	Hulk	Macho	4años	Negativo
14	Blanco	Macho	3años	Negativo
15	Oso	Macho	8meses	Negativo
16	Oso	Macho	1año	Negativo
17	Tarzan	Macho	1año	Negativo
18	Tony	Macho	6meses	Negativo
19	Boby	Macho	1año6meses	Positivo
20	Rocky	Macho	4años	Positivo
21	Caicer	Macho	5años	Negativo
22	Negro	Macho	5años	Negativo
23	Boby	Macho	1año	Positivo
24	Lazy	Hembra	1año6meses	Negativo
25	Stewar	Macho	4años	Positivo
26	Osito	Macho	6meses	Negativo
27	Capitán	Macho	1año	Negativo
28	Brandom	Macho	1año	Negativo

Nº Muestras	Nombre	Sexo	Edad	Resultado
29	Lazy	Hembra	6meses	Negativo
30	Tofee	Macho	8meses	Negativo
31	Sulki	Macho	1año	Negativo
32	Doza	Hembra	6meses	Negativo
33	Boby	Macho	1año	Negativo
34	Yamela	Hembra	6meses	Negativo
35	Rambo	Macho	7años	Positivo
36	Benyi	Macho	2años	Negativo
37	Maco	Macho	6meses	Negativo
38	Caramelo	Macho	2años	Negativo
39	Boby	Macho	2años	Positivo
40	Arturo	Macho	7años	Positivo
41	Sam	Macho	4años	Positivo
42	Pañuela	Hembra	3años	Negativo
43	Negro	Macho	1año	Negativo
44	Mochito	Macho	4años	Negativo
45	Chihuahua	Hembra	1año	Negativo
46	Niño	Macho	5años	Negativo
47	Chiquitin	Macho	2años	Negativo
48	Negro	Macho	8meses	Negativo
49	Peluche	Macho	1año4meses	Negativo
50	Oso	Macho	3años	Negativo
51	Muchacho	Macho	6años	Negativo
52	Quitin	Macho	1año	Negativo
53	Negro	Macho	6meses	Positivo
54	Fido	Macho	1año	Negativo
55	Lazy	Hembra	4años	Negativo
56	Conan	Macho	7meses	Negativo
57	Ursula	Hembra	1año	Negativo
58	Duque	Hembra	6meses	Negativo
59	Coqueta	Hembra	6meses	Negativo

Nº Muestras	Nombre	Sexo	Edad	Resultado
60	Machona	Hembra	7meses	Negativo
61	Chispa	Hembra	7meses	Positivo
62	Quin	Macho	10años	Negativo
63	Draco	Macho	1año	Negativo
64	Muñeca	Hembra	3años	Positivo
65	Tarzan	Macho	8años	Positivo
66	Sarai	Hembra	3años	Negativo
67	Mariposa	Hembra	3años	Negativo
68	Peluza	Hembra	8meses	Negativo
69	Pastor	Macho	2años	Negativo
70	Capitán	Macho	9meses	Negativo
71	Sasha	Hembra	2años	Positivo
72	Boby	Macho	7años	Negativo
73	Charada	Hembra	1 año6 meses	Positivo
74	Zeus	Macho	6años	Negativo
75	Besta	Hembra	4años	Positivo

ANEXO 2: DIFERENCIAS *D. immitis* - *D. reconditum*



ANEXO 3: FOTOS

Toma de muestras



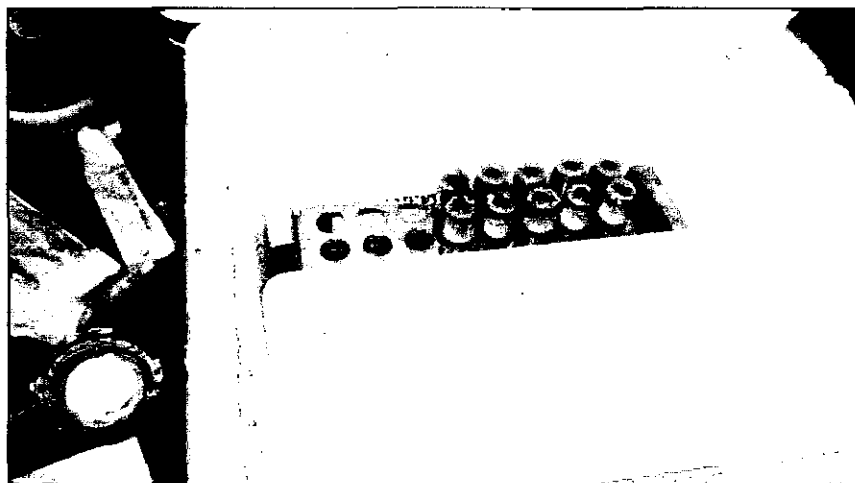
Toma de muestra: realizada por punción de la vena cefálica



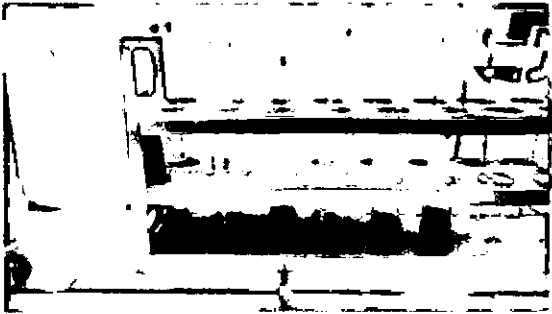
Materiales de campo



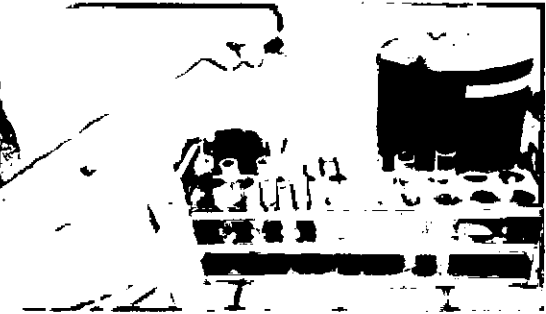
Materiales para toma y conservación de las muestras



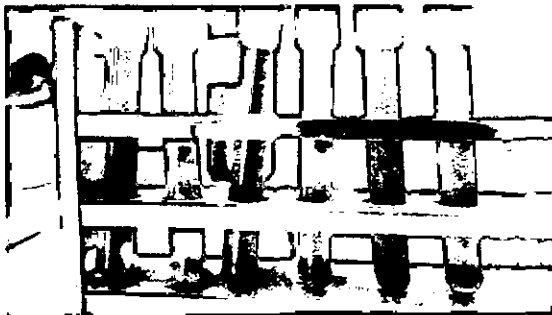
Procesamiento de muestras



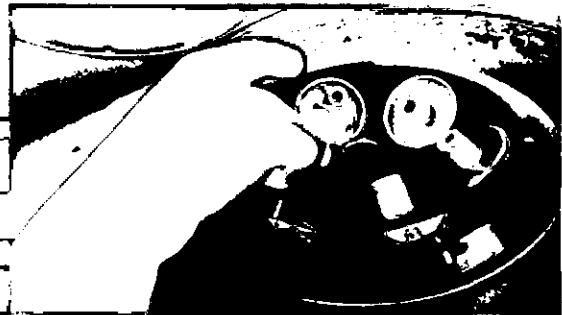
1ml de sangre



9ml de formalina 2%



Mezclar sangre + formalina 2%

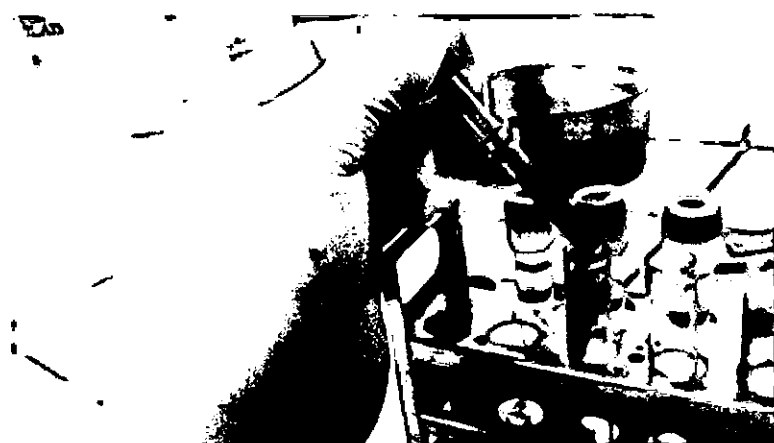


Centrifugar x 5min/1500rpm

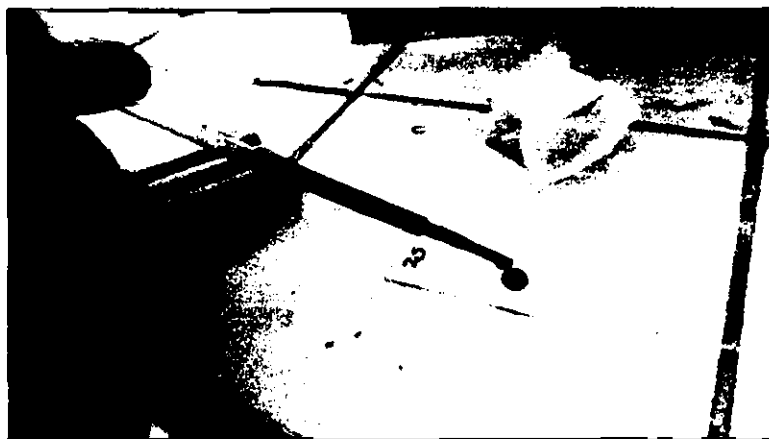


Eliminar el exceso de líquido

Dejar eliminar el líquido



Agregar 1 gota de azul de metileno

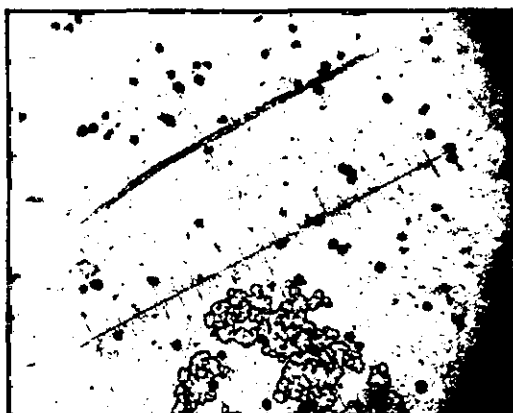


Colocar 1 gota de mezcla en una lámina portaobjetos



Observación en el microscopio

Muestras al microscopio



Microfilaria de *D. immitis*

